

Overproduction of gamma interferon in B/Jas inbred rabbits with herpes simplex virus encephalitis

著者	湯浅 健
発行年	1999-06-29
その他の言語のタイトル	B/Jas近交系家兎のヘルペス脳炎におけるガンマ・インターフェロンの病因論的役割についての検討 B/Jas キンコウケイ カト ノ ヘルペス ノウエン ニ オケル ガンマ インターフェロン ノ ビョウイン ロンテキ ヤクワリ ニ ツイテノ ケントウ
URL	http://hdl.handle.net/10422/2625

氏名・(本籍)	湯 浅 健 (京都府)
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	博士第325号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成11年6月29日
学位論文題目	Overproduction of Gamma Interferon in B/Jas Inbred Rabbits with Herpes Simplex Virus Encephalitis (B/Jas 近交系家兎のヘルペス脳炎におけるガンマ・インターフェロンの病因論的役割についての検討)

審査委員	主査 教授	木 村 宏
	副査 教授	岡 田 裕 作
	副査 教授	瀬 戸 昭

論文内容の要旨

【目 的】

B/Jas 近交系家兎は単純ヘルペスウイルス1型 (HSV-1) に感受性が高く、KOS 株の静脈内接種によって脳炎を発症する。この家兎の脳炎はウイルス接種後2週間で発症し、発症とともに末梢血リンパ球数が減少する特徴がある。本研究では、発症時にみられた血清と髄液中のインターフェロン・ガンマ (IFN γ) 活性の上昇について報告し、その脳炎発作との関わりを考察する。

【方 法】

1. 家兎は B/Jas 近交系家兎を用い、HSV-1 は KOS 株を用いた。
2. 家兎には 1×10^6 plaque forming units の HSV-1 を静脈内接種接種後第1、6、13そして16日に末梢血液を採血し、脳炎発作前兆のみられた第16日には脳髄液も採取した。
3. 抗ウイルス活性の測定は、家兎線維芽細胞株 SP790 と水疱性口内炎ウイルス (VSV) を用いた50%ブラック形成阻止試験によって測定した。
4. INF の性状は pH 感受性と Mx 蛋白誘導能について検査した。
5. 脳炎発作時の家兎脳における組織適合性抗原1型と2型の発現についてそれぞれのモノクローナル抗体を用いた免疫組織染色にて検討した。

【結 果】

1. HSV-1 静脈内接種後の血清及び脳脊髄液中のIFN抗ウイルス活性7匹の家兎の脳炎発症時の血清抗ウイルス活性を測定したところ、ウイルス摂取量に関わらず29単位から83単位まで平均57.9単位の抗ウイルス活性がみられた。次にウイルス静脈内接種後の血清および脳脊髄液中の抗ウイルス活性を測定したところ、血清抗ウイルス活性はウイルス接種後13日までは認められなかったが、16日目には発作の予兆とともに活性が検出された。この時点の脳脊髄液では、血清の4.1-8.2倍の抗ウイルス活性が検出された。これらの結果は、抗ウイルス活性は脳の炎症局所より産生され、脳炎発作直前には血中に漏出することを示唆した。
2. IFN抗ウイルスの活性の性状
 - (1) poly I-C を静脈内接種2時間後に採血した血清の抗ウイルス活性は pH2 の酸性条件の中で変化を認めなかったのに対し、PHA で刺激した家兎末梢血リンパ球の培養上清および脳炎を起こした家兎血清中に検出された抗ウイルス活性は pH2 の酸性により失活した。
 - (2) poly I-C 静脈内接種2時間後の家兎血清、PHA で刺激した家兎末梢血リンパ球の培養上清、および脳炎発作時の血清の存在下で、2種類の HTLV-1 感染T細胞株 B684、F648b を4時間培養し、それぞれ RNA を抽出し、Mx 蛋白の mRNA の発現を reverse transcription-polymerase chain reaction にて調べた。その結果、poly I-C 接種家兎血清でのみ Mx は誘導され、PHA 刺激した PBL の培養上清や脳炎発作時の家兎血清では Mx 蛋白は誘導されないこ

とがわかった。これらの結果より脳炎発作時に見られた抗ウイルス活性は IFN γ によるものと考えられた。

3. 脳炎発作時の家兎脳での組織適合性抗原クラス 1 (MHC-1) およびクラス 2 (MHC-2) の発現を免疫組織染色について検討した。脳炎中心部ではリンパ球やマクロファージなどの炎症細胞の浸潤、その周囲では突起を有する細胞において MHC-1 および MHC-2 がみられた。この細胞は形態的にミクログリアと思われた。これらの結果は、脳の炎症局所より産生された IFN γ により MHC-1 および MHC-2 が脳細胞に誘導されたことを示唆した。

【考 察】

B/Jas 近交系家兎は、HSV-1 の静脈内接種によって接種量に関わらず脳炎を発症する。ウイルス接種から発症まで一定の期間があること、発症時に末梢血リンパ球数が減少することから、宿主とウイルスとの間の免疫反応が病因に関わっていることが示唆される。今回の実験から脳炎発作直前に見られる抗ウイルス活性は脳内の炎症局所で作られることが示唆され、すべての診断基準を満たしたとはいえないが、IFN γ と考えられた。IFN γ は抗原刺激やマイトゲン刺激により T 細胞あるいは NK 細胞で産生されることから、脳内での IFN γ はウイルス感染細胞に対する T 細胞や NK 細胞の反応により増加すると考えられる。またこの家兎に IFN inducer として知られる poly I-C を与えると脳炎の発症は抑制され、血清中の抗ウイルス活性は脳炎時のそれと比較して遙かに高い。IFN γ は IFN α および IFN β よりも抗ウイルス活性が低く、しかも HSV-1 は他のウイルスと比較すると IFN 抵抗性である。このことから脳炎発症時にみられた家兎の IFN γ は脳炎の進行を抑制する効果がないことが示唆される。しかし、脳炎発作時に見られた IFN γ の生物学的活性は MHC-1 および MHC-2 を誘導するのに十分であり脳内のグリア細胞に著しい発現が認められた。IFN は抗ウイルス活性の他に免疫システムの制御にも関わっており、なかでもこの働きは IFN γ がもっとも高い。脳内の炎症局所で産生された IFN γ が細胞障害性 T 細胞やマクロファージあるいは NK 細胞を活性化し、さらに IFN γ はウイルス感染細胞に対して MHC-1 および MHC-2 を誘導し、ウイルス感性細胞の抗原提示に働いていると考えられる。ヒトや他の家兎モデルのヘルペス脳炎は炎症部の出血性壊死が特徴であるが、B/Jas 近交系家兎では脳内への著しいリンパ球浸潤が見られ、出血性の壊死は認めない。このことから、この家兎でのヘルペス脳炎はウイルスの直接的な障害ばかりでなく、浸潤したリンパ球による免疫学的な組織障害も関与すると考えられた。

【結 論】

B/Jas 近交系家兎の脳炎発症時には血清と髄液中に抗ウイルス活性因子が検出され、この因子はインターフェロン・ガンマ (IFN γ) と同定された。脳炎発作時の家兎脳のミクログリアは MHC-1 および MHC-2 が強く発現しており、ウイルス抗原ペプチドを提示することにより脳炎発症に関わっている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本学で開発された B/Jas 近交系家兎は、単純ヘルペスウイルス 1 型の接種により、脳炎を容易に発症する。本論文は、血清および髄液中のインターフェロン抗ウイルス活性を分析し、脳炎発症機構を研究したものである。

抗ウイルス活性は、接種から潜伏期を経て脳炎発症とともに、髄液中に高く血清中に低く検出された。この活性は、酸性で失活し、Mx 遺伝子の誘導能を欠くことから、 γ インターフェロンと考えられた。発症脳を免疫組織染色で観察したところ、リンパ球浸潤が著名な炎症局所の周辺に主要組織適合抗原 (MHC) を発現するミクログリアが検出された。したがって、炎症局所で産生された γ インターフェロンが MHC を誘導し、ウイルス抗原提示機序の引き金をひくものと考えられた。

本研究は、脳内に生じる免疫過剰反応が脳炎発症の基礎病因であることを立証した点において画期的であり、医学 (博士) の授与に値するものと認められた。

なお、学術関連の試問を平成 11 年 5 月 25 日に行ったところ、合格と認められた。